

PCT/JP 00/01353

06.03.00

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

JP00/01353

E.K.U.

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

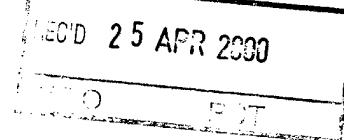
1999年12月 6日

出 願 番 号
Application Number:

平成11年特許願第346309号

出 願 人
Applicant (s):

三菱レイヨン株式会社

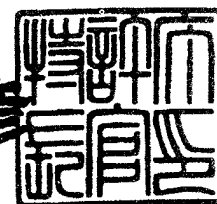


**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 4月 7日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3023388

特平 1 1 - 3 4 6 3 0 9

【書類名】 特許願

【整理番号】 P110681000

【提出日】 平成11年12月 6日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/11

【発明者】

【住所又は居所】 広島県大竹市御幸町 2 0 番 1 号 三菱レイヨン株式会社
中央技術研究所内

【氏名】 高橋 厚

【発明者】

【住所又は居所】 広島県大竹市御幸町 2 0 番 1 号 三菱レイヨン株式会社
中央技術研究所内

【氏名】 伊藤 千穂

【発明者】

【住所又は居所】 広島県大竹市御幸町 2 0 番 1 号 三菱レイヨン株式会社
中央技術研究所内

【氏名】 宮内 陽子

【発明者】

【住所又は居所】 広島県大竹市御幸町 2 0 番 1 号 三菱レイヨン株式会社
中央技術研究所内

【氏名】 村瀬 圭

【特許出願人】

【識別番号】 000006035

【氏名又は名称】 三菱レイヨン株式会社

【代表者】 田口 栄一

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 010054

【納付金額】 21,000円

特平 11-346309

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 生体高分子及び色素が固定化されたゲルが保持された繊維の束を含む繊維配列体を繊維軸と交差する方向に切断して得られる生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片。

【請求項 2】 生体高分子が核酸である請求項 1 記載の生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片。

【請求項 3】 色素が蛍光色素である請求項 1 又は 2 記載の生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片。

【請求項 4】 繊維が中空繊維、多孔質繊維又は多孔質中空繊維である請求項 1 ～ 3 項の何れか 1 項に記載の生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片に関する。該薄片は臨床検査、食品検査等の分野に利用できる。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

近年、各種生物におけるゲノムプロジェクトが進められており、ヒト遺伝子をはじめとして、多数の遺伝子とその塩基配列が急速に明らかにされつつある。配列の明らかにされた遺伝子の機能については、各種の方法で調べることができる。その有力な方法の一つとして、明らかにされた塩基配列情報を利用した遺伝子発現解析が知られている。例えば、ノーザンハイブリダイゼーションに代表されるような、各種の核酸：核酸間ハイブリダイゼーション反応や各種の PCR 反応を利用した方法が開発され、当該方法により各種遺伝子とその生体機能発現との関係を調べることができる。これらの方法では適用し得る遺伝子の数に制限があるが、今日のゲノムプロジェクトを通して明らかにされつつあるような、一個体

レベルという極めて多数の遺伝子の総合的・系統的解析を行うために、多数遺伝子の一括発現解析を可能とするDNAマイクロアレイ法（DNAチップ法）と呼ばれる新しい分析法、ないし方法論が開発されてきた。

【0003】

本発明者らは、先に新規なマイクロアレイを開発した（特願平11-84100号、同11-84101号、同11-83964号、同11-93044等各明細書参照）。これらの発明は、核酸固定化ゲルを繊維の表面ないし空隙部に保持する核酸固定化ゲル保持繊維配列体を作製し、これを配列体の繊維軸と交差する方向に切断することにより薄片を得るものである。この薄片は固定化核酸二次元高密度配列体、すなわちマイクロアレイである。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、このマイクロアレイ中に存在するゲルは一般的に透明であり、すべてのサイトにゲルが存在することを確認することは容易ではなかった。

本発明は、製造時ゲル等の欠陥を容易に検出でき、ハイブリダイゼーション操作での泡の付着やゲルの変形、脱落等を容易に検出できる視認性の改良された生体高分子固定化ゲル保持繊維配列体薄片を提供することを課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討した結果、ゲルに色素、例えば、蛍光色素を固定化することにより、蛍光顕微鏡を用いて製造時、及びハイブリダイゼーション時におけるゲルの充填、変形、脱落状態等を容易に検出できることを見出し本発明に到達した。

【0006】

すなわち、本発明は、生体高分子及び色素が固定化されたゲルが保持された繊維の束を含む繊維配列体を繊維軸と交差する方向に切断して得られる生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片、である。固定化される生体高分子としては、例えば、核酸、固定化される色素としては、例えば、蛍光色素が挙げられる。また、繊維としては中空繊維、多孔質繊維又は多孔質中空繊維等が挙げられ

る。

【0007】

【発明の実施の形態】

ゲルに固定化する対象となる生体高分子としては、デオキシリボ核酸（DNA）やリボ核酸（RNA）、ペプチド核酸（PNA）、オキシペプチド核酸（OPNA）などの核酸、あるいは、蛋白質、多糖類などが挙げられる。これらは、市販品又は生細胞等から得られたもの何れでもよい。

例えば、生体高分子として核酸を用いる場合には、生細胞からのDNA又はRNAの調製は、公知の方法、例えばDNAの抽出については、Blinらの方法（Nucleic Acids Res. 3, 2303（1976））等により、また、RNAの抽出については、Favaloroらの方法（Methods. Enzymol. 65, 718（1980））等により行うことができる。

更には、鎖状若しくは環状のプラスミドDNA又は染色体DNAが用いられる。これらのDNAは、制限酵素若しくは化学的に切断したDNA断片、試験管内で酵素等により合成されたDNA、又は化学合成したオリゴヌクレオチド等を用いることもできる。

【0008】

本発明に用いることができるゲルは、特に制限されないが、例えば、アクリルアミド、N、N-ジメチルアクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、N-アクリロイルアミノエタノール、N-アクリロイルアミノプロパノール、N-メチロールアクリルアミド、N-ビニルピロリドン、ヒドロキシエチルメタクリレート、（メタ）アクリル酸、アリルデキストリン等から選ばれた少なくとも一種以上単量体と、メチレンビス（メタ）アクリルアミド、ポリエチレングリコールジ（メタ）アクリレート等の多官能性単量体を、水性媒体中で共重合したゲルを用いることができる。

その他、アガロース、アルギン酸、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール等のゲル又はこれらを架橋したゲルを用いることができる。

【0009】

本発明では、生体高分子をそのままゲルに固定化してもよく、また、生体高分子に化学的修飾を施した誘導体や、必要に応じて変成させた生体高分子を固定化してもよい。生体高分子のゲルへの固定化には、ゲルに物理的に包括する方法や、ゲル構成成分への直接的な結合を利用してもよく、生体高分子を一旦高分子体や無機粒子などの担体に共有結合あるいは非共有結合により結合させ、その担体をゲルに固定化してもよい。

【0010】

例えば、生体高分子として核酸をゲル構成成分へ直接的に結合させるには、核酸の末端基にビニル基を導入し（WO 98 / 3 9 3 5 1 号公報参照）、アクリルアミド等のゲルの構成成分と共重合させることにより行うことができる。

核酸の末端基へのビニル基の導入をグリシジル基を介して行う場合、あらかじめ核酸を修飾しておく必要があるが、修飾に際しては、グリシジル基と反応するものであれば特に制限を受けない。例えば、アミノ基が導入されたものを用いることができる。

【0011】

アミノ基の導入法に関して、例えば、デオキシリボ核酸（DNA）の場合、アミノ基と一本鎖のDNAの結合部位は、DNAの5' 末端、3' 末端、鎖中、リン酸ジエステル部位又は塩基部位が考えられるが、DNAの5' 末端又は3' 末端で結合することが好ましい。該一本鎖DNA誘導体は、特公平 3 - 7 4 2 3 9 号、米国特許 4, 6 6 7, 0 2 5 号、米国特許 4, 7 8 9, 7 3 7 号等各公報記載の方法に従い調製することができる。

これらの方法以外にも、例えば、市販のアミノ基導入用試薬、例えば、アミノリンク II（PE バイオシステムズジャパン社製）、Amino Modifiers（クロンテック社製）などを用いて、又はDNAの5' 末端のリン酸に、アミノ基を有する脂肪族炭化水素鎖を導入する周知の方法（Nucleic Acids Res., 11 (18), 6513 - (1983)）に従い調製することができる。

【0012】

本発明に用いることができる色素は、主に天然色素、合成染料に分類される。

天然色素の代表例としてはフラボン誘導体、カルコン誘導体、アントラキノン誘導体、インジゴ誘導体などが挙げられる。合成染料の代表例としてはアゾ染料、アントラキノン染料、インジゴイド染料、ジフェニルメタン染料、トリフェニル染料、キサンテン染料、アクリジン染料などが挙げられる。特に、上記の染料色素には蛍光を有する色素も存在する。

本発明に用いることができる蛍光色素の種類は蛍光を発する色素であれば特に限定されるものではないが、例えば、ローダミン、TexasRed、Fluorescein、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、Oregon Green、Pacific Blue、R-Phycerythrin、Rhodol Green、Coumarin誘導体、Amino Methyl Coumarinなどが挙げられる。

【0013】

本発明に用いられる色素の固定化方法は、色素をそのままゲルに固定化してもよく、また、色素に化学的修飾を施した誘導体や、必要に応じて変性させた色素を固定化させても良い。色素のゲルへの固定化には、ゲルに物理的に包括する方法や、ゲル構成成分への直接的な結合を利用してもよく、色素を一旦高分子粒子体や無機粒子などの担体に共有結合あるいは非共有結合により結合させ、その担体をゲルに固定化しても良い。例えば、色素に重合性基を導入し、アクリルアミド等のゲルの構成成分と共重合させることができる。

【0014】

例えば、色素をゲル構成成分へ直接的に結合させるには、Polyscience社製のFluorecein Dimethacrylateや 1-Pyrenylmethyl Methacrylateなどを用いアクリルアミド等のゲル構成成分と共重合させる方法、アミノ基を有する色素誘導体をグリシジルメタクリレート(GMA)と反応させることによって重合性ビニル基を導入しておき、アクリルアミド等のゲル構成成分と共重合させる方法、また、ゲルにアニオン性モノマーを導入し、カチオン性色素をイオン結合させる方法等を挙げることができる。

【0015】

本発明においては、特に、特定の波長の蛍光色素を固定化することにより、蛍光標識を用いた検体を利用したハイブリダイゼーションを行う場合に、検出波長

におけるゲルの高度な透明性を損なうことなくゲルの視認性を付与できる。

【0016】

本発明に用いることができる繊維としては合成繊維、半合成繊維、再生繊維、無機繊維のごとき化学繊維、及び天然繊維等が挙げられる。

合成繊維の代表例としては、ナイロン6、ナイロン66、芳香族ポリアミド等のポリアミド系の各種繊維、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリ乳酸、ポリグリコール酸等のポリエステル系の各種繊維、ポリアクリロニトリル等のアクリル系の各種繊維、ポリエチレンやポリプロピレン等のポリオレフィン系の各種繊維、ポリビニルアルコール系の各種繊維、ポリ塩化ビニリデン系の各種繊維、ポリ塩化ビニル系繊維、ポリウレタン系の各種繊維、フェノール系繊維、ポリフッ化ビニリデンやポリテトラフルオロエチレン等からなるフッ素系繊維、ポリアルキレンパラオキシベンゾエート系の各種繊維などが挙げられる。また、衣料用以外の、例えば、ポリメチルメタクリレートやポリスチレンなどの透明非晶質高分子を主材料とした光学繊維なども用いることができる。

半合成繊維の代表例としては、セルロースジアセテート、セルローストリアセテート、キチン、キトサン等を原料としたセルロース系誘導体各種繊維、プロミックスと称される蛋白質系の各種繊維などが挙げられる。

再生繊維の代表例としては、ビスコース法や銅-アンモニア法、或いは有機溶剤法によるセルロース系の各種再生繊維（レーヨン、キュプラ、ポリノジック等）などが挙げられる。

無機繊維の代表例としては、ガラス繊維、炭素繊維などが挙げられる。

天然繊維の代表例としては、綿、亜麻、苧麻、黄麻などの植物繊維、羊毛、絹などの動物繊維、石綿などの鉱物繊維などが挙げられる。

【0017】

本発明に用いる繊維の構造は、特にその形態が規定されるものではなく、またモノフィラメントであってもよく、マルチフィラメントであってもよい。さらに、短繊維を紡績した紡績糸でもよい。尚、マルチフィラメントや紡績糸の繊維を用いる場合には、生体高分子固定化ゲルの保持に単繊維間の空隙等を利用するこ

とも可能である。

また本発明に用いる繊維は、多孔質な構造を有するものでも良い。断面形状も円形断面のみならず、扁平断面や中空断面などの異形断面でもよい。特にゲルをより強固に固定化する観点から、中空かつ多孔質であることが好ましい。

【0018】

繊維にゲルを保持させるには、ゲル構成成分であるアクリルアミド等の単量体、多官能性単量体、開始剤並びに色素及び生体高分子成分を含む液に繊維を浸し重合、ゲル化させればよい。この際、色素及び生体高分子は、上記したようにゲル構成成分であるアクリルアミド等の単量体や高分子粒子、無機粒子などの担体に結合させておくことが好ましい。

ゲル化は多官能性単量体の存在下に共重合させる方法の他、多官能性単量体の非存在下に共重合させたのち架橋剤を用いて行ってもよい。

その他、生体高分子を固定化したアガロース等を加熱溶解し、繊維を浸し、冷却ゲル化させる方法等が挙げられる。

【0019】

また、中空繊維及び多孔質中空繊維の場合、上述の各成分を含む液に繊維を浸漬する代わりに、該液をこれら繊維の中空部及び／又は多孔質部に注入又は吸引することにより充填した後、ゲル化させてもよい。

中空繊維及び多孔質中空繊維の中空部及び／多孔質部にゲルを保持させる手順は、後述する繊維配列体となす前でもよいし、後でもよい。

【0020】

上記の通り調整された生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維は、収束した後、に密着して、生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体となすことができる。この際、該繊維を規則的に配列し、樹脂接着剤等で接着することにより、例えば、縦横に該繊維が整然と規則的に配列した該繊維配列体を得ることができる。

【0021】

本発明の薄片は、上記の生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体を繊維軸と交差する方向、好ましくは繊維軸に対して垂直方向に切断することにより得ることができる。この際の切断方法としては、例えば、ミクロトームを用いて配

列体から薄片を切り出す方法等が挙げられる。薄片の厚みは任意に調整することができるが、通常 $1 \sim 5,000 \mu\text{m}$ 、好ましくは $10 \sim 2,000 \mu\text{m}$ である。

このようにして得られた薄片は、例えば、蛍光顕微鏡で観察することにより、ゲルの変形、脱落等の形状を容易に観察することができる。

【0022】

これら薄片は、固定化された生体高分子をプローブとして、検体と反応させてハイブリッドを形成させることにより、検体中の特定の生体高分子の検出に用いることができる。ここで言うプローブとは、広義には検体中に存在する蛋白質や低分子化合物等の検体試料側生体高分子と特異的に結合することができる固定側生体高分子を指す。固定化された生体高分子が核酸である場合には、該薄片を検体と反応させてハイブリダイゼーションを行い、プローブと相補的な検体中に存在する核酸とのハイブリッドを形成させ、このハイブリッドを検出することにより、目的とする塩基配列を有する検体中の核酸を検出することができる。

【0023】

ハイブリッドの検出には、ハイブリッドを特異的に認識することができる公知の手段を用いることができる。例えば、検体中の生体高分子に、蛍光物質、発光物質、ラジオアイソトープなどの標識体を作用させ、この標識体を検出することができる。これら標識体の種類や標識体の導入方法等に関しては、何ら制限されることはなく、従来公知の各種手段を用いることができる。

上記のごとき手段によりハイブリッドを完成させた薄片は、蛍光顕微鏡で検出できる。

【0024】

【実施例】

本発明を以下の実施例により更に詳細に説明する。但し、本発明はこれら実施例によりその技術的範囲が限定されるものではない。

【0025】

参考例 1

(a) メタクリレート基を有するオリゴヌクレオチドプローブの調製

以下に示したオリゴヌクレオチド（プローブ A、プローブ B）を合成した。

プローブA: GCGATCGAAACCTTGCTGTACGAGCGAGGGCTC (配列番号1)

プローブB: GATGAGGTGGAGGTCAGGGTTTGGGACAGCAG (配列番号2)

オリゴヌクレオチドの合成はPEバイオシステムズ社の自動合成機DNA/RNA synthesizer (model394)を用いて行い、DNA合成の最終ステップで、アミノリンクII (商標名) (アプライドバイオシステム社)を用いてそれぞれのオリゴヌクレオチドの5'末端に $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_6-$ を導入しアミノ化したプローブを調製した。これらは、一般的手法により脱保護及び精製して使用した。

得られたプローブAまたはB (500nmol/ml) 5 μ l及びグリシジルメタクリレート (GMA) 0.5 μ lを混合し、70℃で2時間反応させ、メタクリレート基を有するオリゴヌクレオチドプローブを調整し、水190 μ lを加えて、100nmol/mlのメタクリレート基を有するプローブ (GMA変性プローブA及びGMA変性プローブB)の溶液を得た。

【0026】

(b) 試料核酸のモデルの調製

試料核酸のモデルとして、(a)で合成したオリゴヌクレオチド (プローブA、プローブB)の配列の一部に相補的なオリゴヌクレオチド (C、D)を合成した。

オリゴヌクレオチドC: GAGCCCTCGCTCGTACAGCAAGGTTTCG (配列番号3)

オリゴヌクレオチドD: CTGCTGTCCCAAACCCTGACCTCCACC (配列番号4)

オリゴヌクレオチドの合成は(a)と同様に行い、オリゴヌクレオチドCの5'末端にCy3をオリゴヌクレオチドDの5'末端にCy5を導入した蛍光標識試料核酸のモデルを調製した。これらは、一般的手法により脱保護及び精製して使用した。

【0027】

(c) 繊維配列体の調製

ポリエチレン製多孔質中空糸膜MHF200TL (三菱レイヨン株式会社製、外径290 μ m、内径200 μ m)5本を、テフロン板上に互いに重なることなく密着させて配列し両端を固定した。これにポリウレタン樹脂接着剤 (日本ポリウレタン工業(株)コロネート4403、ニッポラン4223)を薄く塗布し、中空繊維を接着した。ポリウレタ

ン樹脂が十分に固まった後これをテフロン板上から剥がし、核酸固定化ゲルを保持した多孔質中空繊維が一行に配列したシート状物を得た。これらのシート状物を5枚積層し、上記接着剤で接着し、縦横各々5本ずつ、計25本の中空繊維が正方に規則的に配列した、多孔質中空繊維配列体を得た。

【0028】

実施例 1

(1) 蛍光標識オリゴヌクレオチドの合成

参考例(a)と同様にして5'末端にフルオレセインイソチオシアネート(FITC)を導入したGCATの配列のオリゴヌクレオチドを合成した。

【0029】

(2) メタクリレート基を有する蛍光色素の調製

(1)で得られた5'末端にFITCを有するオリゴヌクレオチド(500nmol/ml)50 μ l及び、グリシジルメタクリレート5 μ l、ジメチルホルムアミド(DMF)5 μ lを混合し、70℃で2時間反応させて、メタクリレート基を有する蛍光色素を調製し、水190 μ lを加えて、100nmol/mlのメタクリレート基を有する蛍光色素(GMA変性FITC)の溶液を得た。

【0030】

(3) 生体高分子固定化ゲル保持繊維配列体の調製

以下の組成からなる重合液1及び2を調整し、参考例(c)で得られた配列体の所定の列の中空繊維の中空部に充填し、内部が水蒸気で飽和された密閉ガラス容器に移し、80℃で4時間放置することにより重合反応を行った。

【0031】

<モノマー液及び重合開始剤液の調整>

下記の質量比で混合して、モノマー液及び開始剤液を調製した。

a) モノマー液

アクリルアミド	0.76	質量部
メチレンビスアクリルアミド	0.04	質量部
水	4.2	質量部

b) 開始剤液

2,2'-アソビス(2-アミジノプロパン) 二塩酸塩 0.01 質量部
水 4.99 質量部

【0032】

<重合液の調製>

上述のモノマー液a)、開始剤液b)及び参考例1(a)で調製したGMA変性プロープA又はGMA変性プロープB、(2)で調製したGMA変性FITCを表1に示す体積比で混合して重合液1~3を調製した。得られた重合液を参考例(c)で得られた中空繊維配列体の所定列の中空繊維の中空部に充填し、内部が水蒸気で飽和された密閉ガラス容器に移し、80℃で4時間放置することにより重合反応を行った。

【0033】

【表1】

	重合液1	重合液2	重合液3
モノマー液	500 μ l	500 μ l	500 μ l
開始剤液	500 μ l	500 μ l	500 μ l
GMA変性FITC(100nmol/ml)	5 μ l	5 μ l	5 μ l
GMA変性プロープA(100nmol/ml)	0	50 μ l	0
GMA変性プロープB(100nmol/ml)	0	0	50 μ l
配列体列番号	1、3、5	2	4

【0034】

(4) スライスおよびゲルの充填状態の観察

(3)で得られたの配列体からマイクロトームを用いて500 μ mの薄片を切り出した。この薄片を蛍光顕微鏡(ニコン製蛍光顕微鏡E400)でFITC用フィルター(励起波長域465~495nm、蛍光波長域515~555nm)を用いて観察したところ、ゲルの充填状態が容易に観察できた。

【0035】

(5) ハイブリダイゼーション

(4)で得られた薄片をハイブリダイゼーション用バッグに入れ、以下の組成からなるハイブリダイゼーション溶液を注ぎ込み、45℃で30分間プレハイブリダイゼーションを行った。

【0036】

＜ハイブリダイゼーション溶液組成＞

5xSSC(0.75mol/l塩化ナトリウム、0.075mol/lクエン酸ナトリウム、Ph7.0)

5%ブロッキング試薬(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)

0.1%N-ラウロイルザルコシンナトリウム

0.02% SDS(ラウリル硫酸ナトリウム)

50% ホルムアミド

【0037】

続いて、参考例(b)で調製した蛍光標識試料核酸のモデルを50pmol/mlの濃度になるように加え、45℃で15時間ハイブリダイゼーションを行った。

ハイブリダイゼーション終了後、核酸固定化薄片をあらかじめ保温しておいた50mlの0.1 x SSC、0.1% SDS溶液に移し、振盪しながら45℃、20分間の洗浄を3回行った。

【0038】

(6) 検出

(5)で得られたハイブリダイゼーション後のチップをCY3用フィルター(励起波長ピー域535nm、半値幅50nm、蛍光波長ピーク610nm、半値幅75nm)で観察したところ、GMA変性FITCの蛍光に妨げられることなく、配列体列番号2のみが蛍光を発生する画像が得られた。次に、(4)と同様に蛍光顕微鏡でFITC用フィルターを用いて観察し、CY3用フィルターで蛍光が観察されない列番号についても、ゲルが全ての中空系に充填されていることを確認できた。同様にCY5用フィルター(励起波長ピー域620nm、半値幅60nm、蛍光波長ピーク700nm、半値幅75nm)で観察したところ、GMA変性FITCの蛍光に妨げられることなく、配列体列番号4のみが蛍光を発生する画像が得られた。以上の結果より、薄片中のプローブAを固定化した断面部にのみオリゴヌクレオチドCが、プローブBを固定化した断面部にのみオリゴヌクレオチドDが、特異的にハイブリダイゼーションしていることが確認でき、なおかつハイブリダイゼーション操作の過程でのゲルの脱落や変形が無かったことが確認できた。

【0039】

【実施例2】

実施例1におけるGMA変性FITCを Polysciences, Inc. 社製Fluorescein Dimethacrylateに代えた以外は同様な条件で繊維配列体の薄片を得た。この薄片を蛍光顕微鏡で観察したところ、ゲルの充填状態が容易に観察できた。また実施例1と同様にハイブリダイゼーションを実施し、Fluoresceinの蛍光によりCY3及びCY5の蛍光検出が妨げられないことと、ハイブリダイゼーション操作の過程でのゲルの脱落や変形が無かったことが確認できた。

【0040】

比較例1

GMA変性FITCを用いずに実施例1と同様の方法で薄片を得た。この薄片を顕微鏡でCY3用フィルターを用いて観察したところ、配列体列番号2のみが蛍光を発生する画像が得られたが、配列体列番号2以外の列のゲルの欠落等充填状態を観察することは困難で、蛍光を発生しない列がハイブリッドを形成していないのか、ゲルが欠落しているのかを容易に判断することができなかった。

【0041】

【発明の効果】

本発明により、マイクロアレイ中に存在するゲルの充填状態を容易に確認できるようになった。これにより、マイクロアレイの検品作業の効率が著しく向上する。また、ハイブリダイゼーション後にゲルの充填状態を容易に確認できるため、ハイブリッドを形成していないのか、ゲルが欠落しているのかを容易に判断できる。

【0042】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Mitsubishi Rayon Co., Ltd.

<120> A slice of an array of fibers holding biopolymer- and chromogen-fixed gel

<130> P110681000

<160> 4

<210> 1

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<223> Synthetic DNA

<400> 1

gcgatcgaaa ccttgctgta cgagcgaggg ctc

<210> 2

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<223> Synthetic DNA

<400> 2

gatgaggtgg aggtcaggt ttgggacagc ag

<210> 3

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<223> Synthetic DNA

<400> 3

gagccctcgc tcgtacagca aggtttcg

<210> 4

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<223> Synthetic DNA

<400> 4

特平 1 1 - 3 4 6 3 0 9

ctgctgtccc aaaccctgac ctccacc

【 0 0 4 3 】

【配列表のフリーテキスト】

配列番号 1 : 合成DNA

配列番号 2 : 合成DNA

配列番号 3 : 合成DNA

配列番号 4 : 合成DNA

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 製造時ゲル等の欠陥を容易に検出でき、ハイブリダイゼーション操作での泡の付着やゲルの変形、脱落等を容易に検出できる視認性の改良された生体高分子固定化ゲル保持繊維配列体薄片の提供。

【解決手段】 生体高分子及び色素が固定化されたゲルが保持された繊維の束を含む繊維配列体を繊維軸と交差する方向に切断して得られる生体高分子及び色素固定化ゲル保持繊維配列体薄片。

【選択図】 なし

特平11-346309

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006035]

1. 変更年月日	1998年 4月23日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都港区港南一丁目6番41号
氏 名	三菱レイヨン株式会社